

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.10.013

· 临床研究 ·

lncRNA XIST 通过调控 miR-337-3p/HOXC8 轴促进胃癌的发展进程

徐龙健, 高建超, 郑景珍, 赵志娟, 钟轩, 孙敬国, 李东坤(唐山市开滦总医院 普通外科, 河北 唐山 063000)

[摘要] **目的:** 探讨 lncRNA XIST(XIST)通过调控 miR-337-3p/HOXC8 分子轴介导胃癌发展进程的分子机制。**方法:** 选取 2013 年 3 月至 2018 年 1 月河北省唐山市开滦总医院普通外科手术切除的 58 例胃癌组织和对应的癌旁组织标本, 以及人胃癌细胞系 AGS、MGC803、HGC27 和人胃黏膜细胞 GES-1, 用 qPCR 检测胃癌组织和细胞系中 XIST 和 miR-337-3p 的表达水平。将 XIST 敲降载体、miR-337-3p mimics/inhibitor 和 HOXC8 过表达载体转染进 AGS 细胞, 用 CCK-8、Transwell 实验检测 AGS 细胞的增殖及侵袭能力, 用 WB 检测 HOXC8 及上皮钙黏蛋白(E-cadherin)、神经钙黏蛋白(N-cadherin)和波形蛋白(vimentin)的表达水平。用双荧光素酶报告基因验证 XIST、miR-337-3p 和 HOXC8 的靶向关系。**结果:** XIST 在胃癌组织和细胞系中高表达(均 $P < 0.01$)。敲降 XIST 显著抑制 AGS 细胞的增殖、侵袭和 EMT ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。XIST 靶向作用 miR-337-3p 并下调其表达, HOXC8 是 miR-337-3p 的靶基因。敲降 XIST 通过靶向上调 miR-337-3p 对 HOXC8 表达的抑制作用, 从而抑制 AGS 细胞增殖、侵袭和 EMT ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:** 敲降 XIST 可抑制 AGS 细胞增殖、侵袭和 EMT, 其作用机制是通过靶向 miR-337-3p 并下调 HOXC8 的表达。

[关键词] 胃癌; AGS 细胞; 增殖; 上皮间质转化; lncRNA XIST; miR-337-3p; HOXC8

[中图分类号] R730.4; R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)10-1134-08

lncRNA XIST promotes gastric cancer progression *via* regulating miR-337-3p / HOXC8 axis

XU Longjian, GAO Jianchao, ZHENG Jingzhen, ZHAO Zhijuan, ZHONG Xuan, SUN Jingguo, LI Dongkun (Department of General Surgery, Kailuan General Hospital of Tangshan City, Tangshan 063000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanism of lncRNA XIST (XIST) on modulating gastric cancer progression *via* regulating miR-337-3p/HOXC8 axis. **Methods:** A total of 58 cases of gastric cancer tissues and corresponding para-cancerous tissues resected from March 2013 to January 2018 in Department of General Surgery, Kailuan General Hospital of Tangshan City were collected for this study; in addition, human gastric cancer cell lines (AGS, MGC803, HGC27) and human gastric mucosal GES-1 cells were also collected. qPCR was used to detect the expressions of XIST and miR-337-3p in above mentioned gastric tissues and cell lines. XIST-knockdown vectors, miR-337-3p mimics, miR-337-3p inhibitor and HOXC8-overexpression vectors were transfected into AGS cells. The proliferation and invasion of AGS cells were detected by CCK-8 and Transwell experiments respectively, and the expression levels of HOXC8, E-cadherin, N-cadherin and vimentin were detected by WB. The targeting relationships between XIST, miR-337-3p and HOXC8 were verified by dual-luciferase reporter gene assay. **Results:** XIST was up-regulated in gastric cancer tissues and cell lines (all $P < 0.01$). XIST knockdown significantly inhibited proliferation, invasion and EMT of AGS cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Moreover, XIST directly interacted with miR-337-3p and down-regulated its expression, while HOXC8 was the target gene of miR-337-3p. Furthermore, XIST knockdown suppressed proliferation, invasion and EMT of AGS cells through up-regulating the inhibitory effect of miR-337-3p on HOXC8 ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** XIST knockdown can suppress the proliferation, invasion and EMT of AGS cells, which may be related with down-regulation of HOXC8 by targeting miR-337-3p.

[Key words] gastric cancer; AGS cell; proliferation; EMT; lncRNA XIST; miR-337-3p; HOXC8

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(10): 1134-1141. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.10.013]

胃癌是全球四大常见癌症之一,其确诊患者多为晚期胃癌^[1]。目前针对晚期胃癌患者的治疗方法以手术切除、化疗和放疗为主,但由于胃癌的高转移率和高复发率导致晚期胃癌治疗效果不理想^[2]。胃癌早期治疗效果较好,早发现、早治疗有助于提高胃癌患者生存率,为此,很有必要寻找新的生物标志物

来判断胃癌发展进程^[3]。近年来多项研究^[1-2]表明,长非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 调控多

[作者简介] 徐龙健(1974-),男,硕士,副主任医师,主要从事胃结肠癌的微创治疗

[通信作者] 徐龙健(XU Longjian, corresponding author), E-mail: 15373569622@163.com

种肿瘤的发展进程。lncRNA XIST(XIST)通过调控 miR-140/miR-124/iASPP 信号轴促进胰腺癌的发展^[4]。在成视网膜细胞瘤的研究^[5]中发现,敲降 XIST 通过调控 miR-124/STAT3 分子轴抑制成视网膜细胞瘤的发展。同时,有研究^[6-8]证实,lncRNA 与 miRNA 相互作用,调控肿瘤的发展进程。XIST 通过下调 miR-200a 上调 Fus 的表达,从而加速宫颈癌的发展^[8]。XIST 竞争性结合 miR-181a 调控 PTEN 的表达,促进肝细胞癌的发展^[9]。XIST 竞争性结合 miR-494 上调 CDK6 的表达,促进食管癌的发展^[7]。上述研究表明,lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络有望成为胃癌诊断的分子标志物。本研究通过检测胃癌组织和细胞中 XIST、miR-337-3p 的表达水平,旨在探讨 XIST 的表达对胃癌细胞增殖、侵袭和 EMT 的影响及其调控胃癌发展进程的分子机制。

1 资料与方法

1.1 组织标本、细胞系及主要试剂

收集 2013 年 3 月至 2018 年 1 月河北省唐山市开滦总医院普通外科手术切除且资料完整的 58 例胃癌组织和癌旁组织标本,迅速保存于液氮中。病例纳入标准:(1)符合胃癌诊断标准,且经病理学或细胞系确诊的胃癌患者;(2)未进行手术、放疗、免疫治疗等抗肿瘤治疗的初治患者;(3)患者及家属知情并签署知情同意书,经医院医学伦理委员会审查批准。病例排除标准:(1)术前未进行任何抗肿瘤治疗的患者;(2)患者不同意样本的采集;(3)不能耐受手术的患者;(4)合并其他恶性肿瘤患者。

人胃癌细胞系 AGS、MGC803、HGC27 及人胃黏膜细胞 GES-1 购自武汉原生原代生物医药科技有限公司。

XIST、miR-337-3p 和 HOXC8 的敲降/过表达载体委托上海吉玛制药技术有限公司合成。DMEM 培养基和胎牛血清(FBS)均购自美国 Gibco 公司,青霉素和链霉素均购自北京雷根生物技术有限公司,LipofectamineTM2000、TRIzol 试剂、逆转录试剂盒和 SYBR Green Mix 均购自日本 TaKaRa 公司,CCK-8 试剂盒购自北京 Solarbio 科技有限公司,Transwell 小室购自美国康宁公司,ECL 化学发光试剂盒、SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒和 BCA 蛋白定量试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司,anti-HOXC8、anti-E-cadherin、anti-N-cadherin、anti-vimentin 一抗和山羊抗兔 IgG(H+L)二抗均购自美国 CST 公司,双荧光素酶报告基因试剂盒和报告基因载体均购自 Promega 公司。

1.2 细胞培养、转染及分组

将细胞置于含 10%FBS、100 U/ml 青霉素和 100 $\mu\text{g/ml}$ 链霉素的 DMEM 培养基中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂ 培养箱中常规培养。

取对数生长期 AGS 细胞,经胰酶消化后,用不含 FBS 的 DMEM 培养基重悬至密度为 1×10^5 个/ml。将细胞接种于 6 孔板(2 ml/孔),常规培养 24 h。按照下述分组,使用终浓度为 50 nmol/l 的 LipofectamineTM 2000 脂质体混合转染 AGS 细胞 48 h 后进行后续实验检测。转染细胞分组:阴性对照组(NC)、XIST shRNA 转染组(XIST sh1、XIST sh2、XIST sh3)、miR-337-3p mimics 转染组(miR-mim)、XIST sh3 和 HOXC8 共转染组(XIST sh3+HOXC8)、XIST sh3 和 miR-337-3p inhibitor 共转染组(XIST sh3+miR-inh)、miR-337-3p mimics 和 HOXC8 共转染组(miR-mim+HOXC8)。

1.3 qPCR 实验检测胃癌组织和细胞系中 XIST 和 miR-337-3p 的表达

用 TRIzol 一步法提取胃癌组织和细胞总 RNA,用逆转录试剂盒合成 cDNA。取 2 μl 逆转录产物进行 PCR 反应,XIST 以 GAPDH 为内参,miR-337-3p 以 U6 为内参。引物序列:XIST F 为 CTCTCCATTGGGTTTCAC,R 为 GCGGCAGGTCTTAAGAGATGAG;miR-337-3p F 为 AACTCCAGCTGGGCTCCTATATGATGC,R 为 ACTCCACGACACCAGTTGAG;U6 F 为 GAGGCACAGCGGAACG,R 为 CTACCACATAGTCCAGG;GAPDH F 为 GGTGAAGGTCGGAGTCAACG,R 为 CAAAGTTGTCATGGATGHACC。PCR 反应条件为:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 s,共计 45 个循环。检测结果以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 XIST 和 miR-337-3p 的表达量。

1.4 CCK-8 法检测 AGS 细胞的增殖能力

取对数生长期 AGS 细胞接种于 96 孔板,每孔含 1×10^4 个细胞,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂ 培养箱中常规培养 24 h。于待测前 1 h 向每孔加入 10 μl CCK-8 溶液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育 3 h,用酶标仪检测 450 nm 处光密度(D)值。

1.5 Transwell 实验检测 AGS 细胞的侵袭能力

取 50 μl 基质胶/无 FBS 培养基混合液(1:5)滴加于 Transwell 小室中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中静置 30 min。各转染组细胞经胰酶消化后,用 PBS 洗 2 次并用无 FBS 培养基重悬细胞,调整细胞密度为 1×10^5 个/ml。取 100 μl 细胞悬液接种于 Transwell 上室,下室加入 250 μl 含 FBS 的培养基,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂ 培养箱中常规培养 48 h,取出小室,PBS 洗 2 遍,去除死细胞和细胞碎片。4%多聚甲醛固定细胞 15 min,0.1%结晶紫染色 15 min,用 PBS 洗净上室中残留的结晶紫染液,干燥后置于倒置显微镜

下($\times 100$)观察、计数穿膜细胞数。

1.6 WB实验检测AGS细胞中HOXC8和EMT相关蛋白的表达

取生长良好的AGS细胞, PBS洗2次, 加入RIPA裂解液冰浴20 min, 4°C $500\times g$ 离心20 min, 取上清液, 按BCA试剂盒说明测定蛋白浓度及纯度。实施10%SDS-PAGE, 以分离蛋白, 用半干转移法将蛋白转至PVDF膜上, 蛋白于5%牛血清蛋白中密封1 h, 加入anti-HOXC8(1:1 000)、anti-E-cadherin(1:1 000)、anti-N-cadherin(1:1 000)、anti-vimentin(1:1 000), 4°C 下过夜培养。次日, TBST清洗3次, 每次5 min, 加入山羊抗兔IgG(H+L)(1:500), 室温孵育1 h。TBST洗膜3次, 加入ECL化学发光试剂, 以GAPDH为内参, 置于凝胶成像系统中采集图像, 采用Image J软件对蛋白条带进行半定量分析。

1.7 双荧光素酶报告基因验证XIST、miR-337-3p和HOXC8的靶向关系

将包含miR-337-3p与XIST或HOXC8 3' UTR区结合位点的序列片段导入pmirGLO luciferase表达载体中, 获得XIST-Wt/HOXC8-Wt载体, 以同样的方

法获得XIST-Mut/HOXC8-Mut载体。分别转染miR-337-3p mimics和阴性对照组, 48 h后按双荧光素酶报告基因试剂盒要求检测荧光素酶活性。

1.8 统计学处理

1.3~1.7实验均重复3次。用SPSS 20.0统计软件对实验数据进行统计分析。用GraphPad Prism 6绘制实验数据相关图片。两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 多组间两两比较采用LSD- t 检验。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 XIST在胃癌组织及细胞系中高表达

qPCR检测结果显示, 在胃癌组织中XIST的表达水平显著高于癌旁组织($t=3.30, P<0.01$; 图1A); 在胃癌细胞系AGS、MGC803和HGC27中XIST的表达水平显著高于GES-1细胞($F=262.49, P<0.01$; 图1B), 且AGS细胞中XIST的表达显著高于MGC803和HGC27细胞(LSD- $t=8.91, 18.96$, 均 $P<0.01$), 故后续实验选择AGS细胞。结果表明, XIST的异常表达可能与胃癌的发展相关。

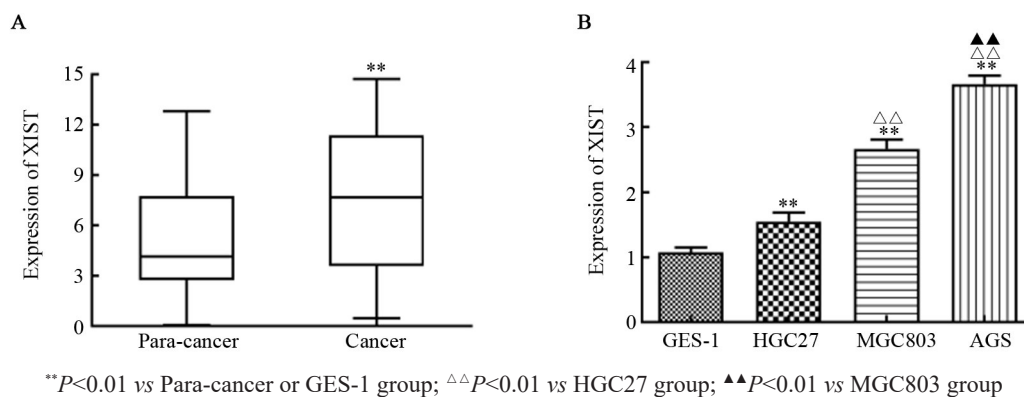


图1 XIST在胃癌组织(A)及细胞系(B)中高表达

Fig.1 XIST was up-regulated in gastric cancer tissues (A) and cell lines (B)

2.2 敲降XIST显著抑制AGS细胞增殖、侵袭和EMT

qPCR结果(图2A)显示, 与对照组比较, 转染XIST shRNA可明显下调XIST在AGS细胞中的表达水平($F=437.75, P<0.01$), 且转染XIST sh3的效果明显优于转染XIST sh1和XIST sh2(LSD- $t=26.58, 20.49$, 均 $P<0.01$)。CCK-8检测结果(图2B)显示, 与对照组比较, 敲降XIST显著抑制AGS细胞增殖能力($t_{48h}=3.04, t_{72h}=2.74$, 均 $P<0.05$; $t_{96h}=4.45, P<0.01$)。Transwell实验结果(图2C)显示, 与对照组比较, 敲降XIST后AGS细胞侵袭能力显著降低($t=6.03, P<0.01$)。WB检测结果显示(图2D), 与对照组比较, 敲降XIST后, AGS细胞中E-cadherin表达显著上调($t=7.91, P<0.01$), N-cadherin和vimentin表达显著下调(t

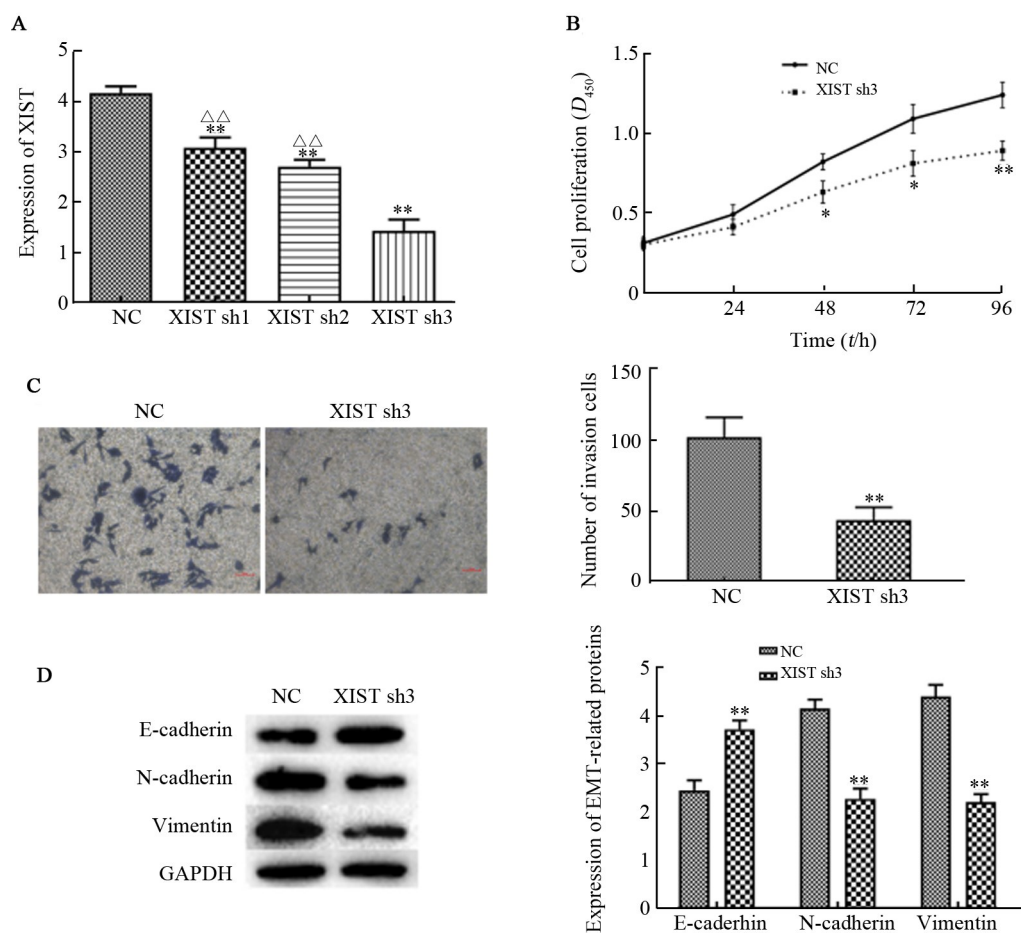
$=11.43, 13.26$, 均 $P<0.01$)。结果表明, 敲降XIST显著抑制AGS细胞增殖、侵袭和EMT。

2.3 XIST通过调控miR-337-3p介导HOXC8的表达

生物信息学数据库Starbase预测结果(图3A)显示, miR-337-3p是XIST的潜在靶基因。双荧光素酶报告基因验证结果(图3B)显示, 与对照组比较, 共转染miR-337-3p mimics和pmirGLO-XIST-Wt可显著下调荧光素酶活性($t=7.15, P<0.01$), 而共转染miR-337-3p mimics和pmirGLO-XIST-Mut后, 其荧光素酶活性与对照组比较差异无统计学意义($t=0.80, P>0.05$)。qPCR结果(图3C)显示, 敲降XIST后, AGS细胞中miR-337-3p表达显著上调($t=51.98, P<0.01$); 58例胃癌组织检测结果(图3D)显示, XIST与miR-

337-3p 的表达呈负相关($r=-0.75, P<0.01$)。结果表明, miR-337-3p 是 XIST 的靶基因, 且 XIST 可负调控

miR-337-3p 的表达。



* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs NC group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs XIST sh3 group

A: qPCR was used to detect the expression of XIST in AGS cells; B: CCK-8 assay was applied to measure the cell proliferation of AGS cells; C: Transwell assay was applied to detect the invasion capability of AGS cells ($\times 100$); D: WB was used to measure the expression of EMT-related proteins in AGS cells

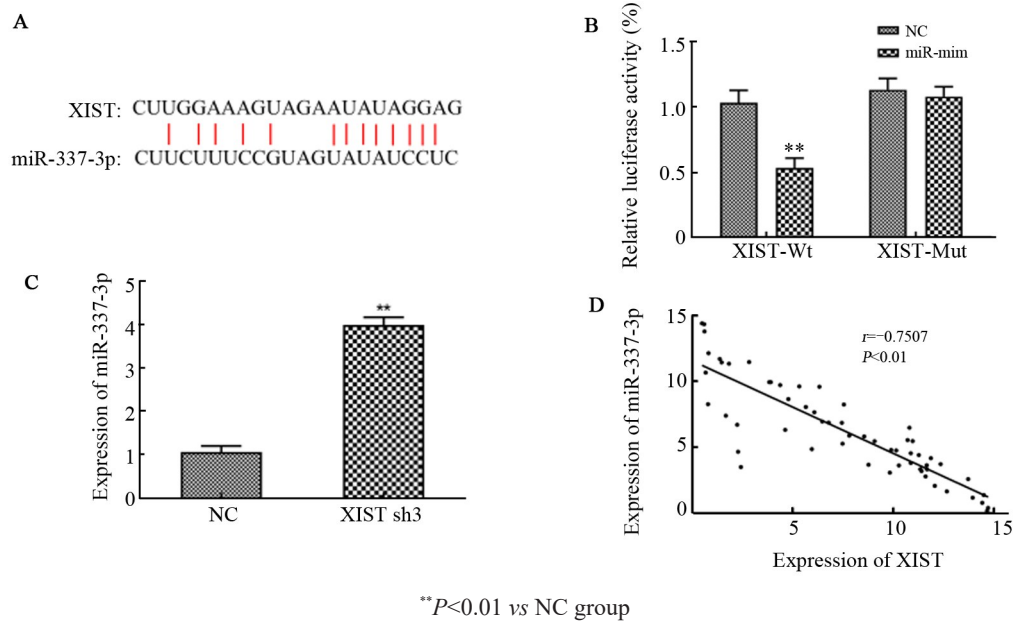
图2 敲降 XIST 对 AGS 细胞生物学行为的影响

Fig.2 Effect of XIST knockdown on biological behaviors of AGS cells

生物信息学数据库 PITA 预测结果(图 4A)显示, HOXC8 是 miR-337-3p 的候选靶基因。双荧光素酶报告基因验证结果显示(图 4B), 与对照组比较, 转染 miR-337-3p mimics 显著降低 HOXC8-Wt 的荧光素酶活性($t=10.54, P<0.01$), 而 HOXC8-Mut 的荧光素酶活性无显著变化($t=1.25, P>0.05$)。WB 检测结果(图 4C)显示, 与对照组比较, 过表达 miR-337-3p, AGS 细胞中 HOXC8 的表达水平显著下调($t=13.17, P<0.01$)。qPCR 检测胃癌组织标本结果(图 4D)发现, miR-337-3p 与 HOXC8 的表达呈负相关($r=-0.78, P<0.01$)。结果表明, HOXC8 是 miR-337-3p 的靶基因, 且 miR-337-3p 负调控 HOXC8 的表达。

2.4 XIST 通过竞争性结合 miR-337-3p 调控 HOXC8 影响 AGS 细胞的生物学行为

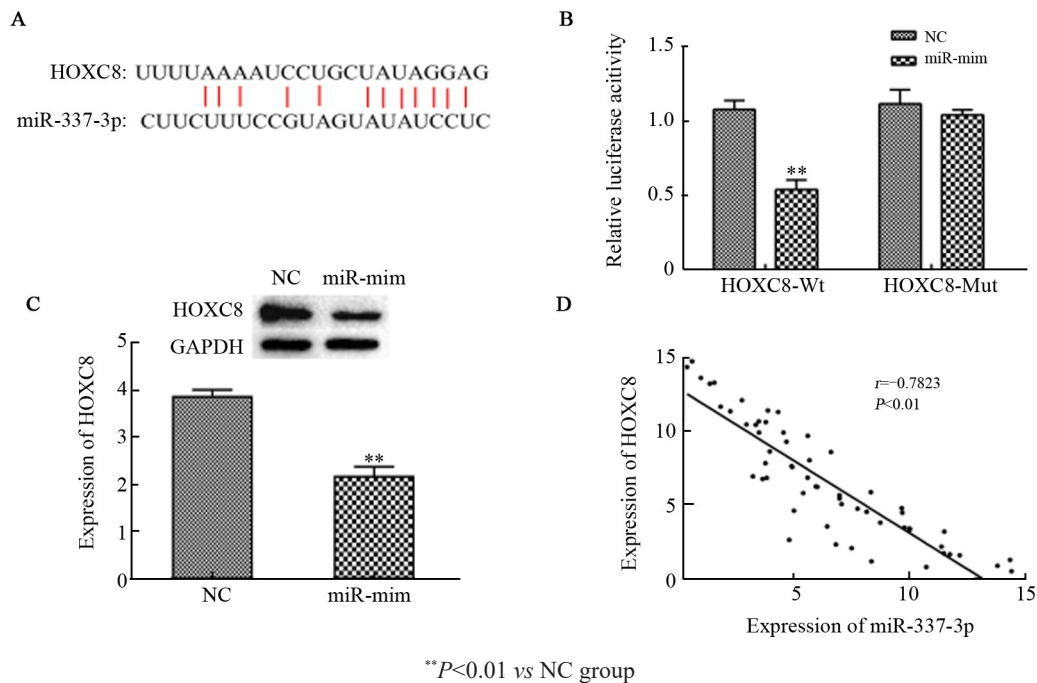
qPCR 检测结果(图 5A)显示, 与 NC 组比较, 转染 miR-mim 后, miR-337-3p 表达显著上调(LSD- $t=23.99, P<0.01$)。WB 检测结果(图 5B)显示, 与 NC 组比较, 过表达 miR-mim 后显著下调 HOXC8 的表达水平(LSD- $t=14.27, P<0.01$)。与 miR-mim 组比较, 回复实验组(XIST sh3+HOXC8 组、XIST sh3+miR-inh 组和 miR-mim+HOXC8 组)中 miR-337-3p 表达显著下调($F=240.66, P<0.01$), HOXC8 表达显著上调($F=42.10, P<0.01$)。CCK-8 和 Transwell 实验结果(图 5C, 5D)显示, 与 NC 组比较, 过表达 miR-337-3p 显著降低 AGS 细胞的增殖和侵袭能力(增殖: LSD- $t_{24h}=2.62, LSD-t_{48h}=3.52$, 均 $P<0.05$; LSD- $t_{72h}=6.53, LSD-t_{96h}=8.12$, 均 $P<0.01$; 侵袭: LSD- $t=10.37, P<0.01$), 而回复实验组中 AGS 细胞的增殖和侵袭能力无明显差



A: The bioinformatics analysis result showed that miR-337-3p was a target gene of XIST; B: Dual-luciferase reporter gene assay was used to verify the relationship between XIST and miR-337-3p; C: qPCR was used to detect the expression of miR-337-3p; D: The Spearman's correlation analysis was used to evaluate the relationship between XIST and miR-337-3p

图3 miR-337-3p是XIST的靶基因

Fig.3 miR-337-3p was a target gene of XIST



A: The bioinformatics analysis result showed HOXC8 was a target gene of miR-337-3p; B: Dual-luciferase reporter gene assay was used to verify the relationship between miR-337-3p and HOXC8; C: WB was applied to measure the expression of HOXC8; D: The Spearman's correlation analysis was used to evaluate the relationship between miR-337-3p and HOXC8

图4 HOXC8是miR-337-3p的靶基因

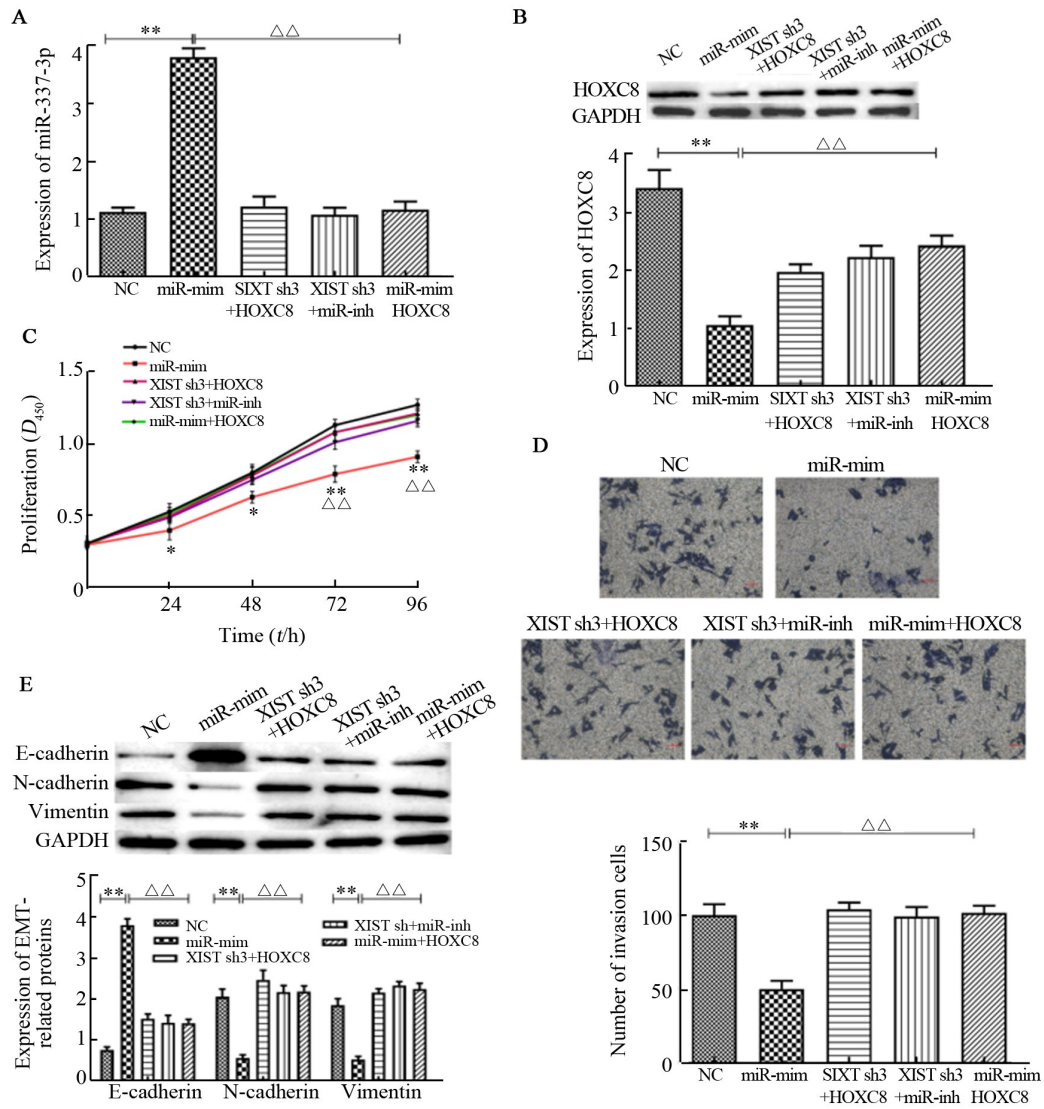
Fig.4 HOXC8 was a target gene of miR-337-3p

异(增殖: $F_{24h}=0.30, F_{48h}=0.37, F_{72h}=1.64, F_{96h}=2.00$, 均 $P > 0.05$; 侵袭: $F=0.39, P > 0.05$); 与 miR-mim 组比较, 回复实验组中 AGS 细胞的增殖和侵袭能力上调

(增殖: $F_{48h}=5.16, P < 0.05; F_{72h}=13.55, F_{96h}=19.86$, 均 $P < 0.01$; 侵袭: $F=68.06, P < 0.01$)。WB 检测结果 (图 5E) 显示, 与 NC 组比较, 过表达 miR-337-3p 后, E-

cadherin 表达显著上调(LSD- $t=28.84$, $P<0.01$), N-cadherin 和 vimentin 表达显著下调(LSD- $t=10.99$, 13.69 , 均 $P<0.01$); 与 miR-mim 组比较, 回复实验组中 E-cadherin 表达显著下调 ($F=212.88$, $P<0.01$), N-cadherin 和 vimentin 表达显著上调 ($F=87.34$,

204.07, 均 $P<0.01$)。结果表明, 敲降 XIST 通过靶向 miR-337-3p 并下调 HOXC8 降低 AGS 细胞的增殖和侵袭能力, 同时抑制 AGS 细胞的 EMT。综上可知, XIST 通过竞争性结合 miR-337-3p 上调 HOXC8, 促进胃癌发展进程。



** $P<0.01$ vs NC group; △△ $P<0.01$ vs XIST sh3+HOXC8 or XIST sh3+miR-inh or miR-mim+HOXC8 group

A: qPCR was used to detect the expression of miR-337-3p in AGS cells; B: WB was applied to measure the expression of HOXC8 in AGS cells; C: CCK-8 assay was applied to measure the cell proliferation of AGS cells; D: Transwell assay was applied to detect the invasion capability of AGS cells (crystal violet staining, $\times 100$); E: WB was used to measure the expression of EMT-related proteins in AGS cells

图5 XIST通过miR-337-3p/HOXC8分子轴影响AGS细胞生物学行为

Fig.5 XIST modulated biological behaviors of AGS cell line via regulating miR-337-3p/HOXC8 axis

3 讨论

胃癌是导致全球癌症相关死亡的第二大癌症, 大多数胃癌患者诊断晚、预后差^[3]。目前对晚期胃癌的治疗效果不理想, 5年生存率低于40%^[3], 因此迫切需要寻找新的生物标志物来诊断和治疗胃癌。XIST

是一种约17 kb的lncRNA^[9], 在多种肿瘤发展进程中起重要作用, 可通过研究XIST表达水平的差异寻找肿瘤诊断的新的生物标志物。HU等^[10]发现, XIST在膀胱癌细胞系中高表达, 同时XIST通过调控miR-139-5p介导的Wnt/ β -catenin信号通路促进膀胱癌细胞远处转移。XIONG等^[11]发现, XIST通过与miR-

124相互作用靶向调控雄激素受体,从而调控膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭。本研究发现,XIST在胃癌组织及细胞系(AGS、MGC-803和HGC-27)中高表达,敲降XIST显著抑制AGS细胞的增殖、侵袭和EMT。

miRNA是一种长度为22~25个核苷酸的小型非编码氨基酸^[12],在多种肿瘤发展进程中发挥重要作用。miR-337-3p通过抑制MZF1介导的MMP-14的表达抑制胃癌的发展进程^[12]。miR-337-3p通过调控Capn4的表达抑制肾透明细胞癌细胞的增殖和远处转移^[13]。miR-337-3p通过抑制MMP-14的转录抑制成神经细胞瘤的发展进程^[14]。本研究发现,miR-337-3p是XIST的靶基因,且XIST可负调控miR-337-3p的表达。

HOXC8是同源盒基因家族的一员,参与调控人类多种恶性肿瘤的发生与发展^[15]。HOXC8的异常表达抑制鼻咽癌细胞的增殖^[16]。HOXC8的异常表达与乳腺癌细胞的迁移和远处转移相关^[17]。HOXC8通过促进细胞增殖从而促进宫颈癌的发展^[18]。HOXC8通过上调TGFβ1促进非小细胞肺癌细胞的增殖和迁移^[19]。本研究发现,HOXC8是miR-337-3p的靶基因。

近年来,lncRNA作为竞争性内源RNA作用于miRNA,从而调控肿瘤发展进程的作用受到了广泛的关注^[6-8]。XIST通过竞争性结合miR-23a调控RKIP的表达,在前列腺癌中发挥抑癌作用^[20]。XIST竞争性结合miR-195-5p上调YAP的表达,促进骨肉瘤的发展进程^[21]。本研究发现,XIST通过竞争性结合miR-337-3p上调HOXC8,促进AGS细胞的增殖、侵袭和EMT。

综上所述,本研究通过细胞实验证实,XIST通过竞争性结合miR-337-3p并上调HOXC8进而促进胃癌细胞增殖、侵袭和EMT,从而促进胃癌的发展进程,表明miR-337-3p/HOXC8有望成为胃癌早期诊断和预后评估的生物标志物。

[参考文献]

- [1] MA L, ZHOU Y J, LUO X J, et al. Long non-coding RNA XIST promotes cell growth and invasion through regulating miR-497 / MACC1 axis in gastric cancer[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(3): 4125-4135[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5354817/>. DOI:10.18632/oncotarget.13670.
- [2] CHEN D L, JU H Q, LU Y X, et al. Long non-coding RNA XIST regulates gastric cancer progression by acting as a molecular sponge of miR-101 to modulate EZH₂ expression[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1): 142[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC520507/>. DOI: 10.1186/s13046-016-0420-1.
- [3] ZHANG Q, CHEN B Y, LIU P, et al. XIST promotes gastric cancer (GC) progression through TGF-β1 via targeting miR-185[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(3): 2787-2796. DOI:10.1002/jcb.26447.
- [4] LIANG S, GONG X J, ZHANG G W, et al. The lncRNA XIST interacts with miR-140/miR-124/iASPP axis to promote pancreatic carcinoma growth[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(69): 113701-113718[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5768357/>. DOI:10.18632/oncotarget.22555.
- [5] HU C M, LIU S, HAN M, et al. Knockdown of lncRNA XIST inhibits retinoblastoma progression by modulating the miR-124/STAT3 axis[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2018, 107: 547-554. DOI:10.1016/j.biopha.2018.08.020.
- [6] CHANG S Z, CHEN B H, WANG X Y, et al. Long non-coding RNA XIST regulates PTEN expression by sponging miR-181a and promotes hepatocellular carcinoma progression[J/OL]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 248[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5383949/>. DOI:10.1186/s12885-017-3216-6.
- [7] CHEN Z Z, HU X, WU Y, et al. Long non-coding RNA XIST promotes the development of esophageal cancer by sponging miR-494 to regulate CDK6 expression[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2019, 109: 2228-2236. DOI:10.1016/j.biopha.2018.11.049.
- [8] ZHU H, ZHENG T, YU J, et al. LncRNA XIST accelerates cervical cancer progression via upregulating Fus through competitively binding with miR-200a[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2018, 105: 789-797. DOI:10.1016/j.biopha.2018.05.053.
- [9] CHENG Z H, LI Z, MA K, et al. Long non-coding RNA XIST promotes glioma tumorigenicity and angiogenesis by acting as a molecular sponge of miR-429[J/OL]. *J Cancer*, 2017, 8(19): 4106-4116[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5706014/>. DOI: 10.7150/jca.21024.
- [10] HU Y Y, DENG C, ZHANG H, et al. Long non-coding RNA XIST promotes cell growth and metastasis through regulating miR-139-5p mediated Wnt/β-catenin signaling pathway in bladder cancer[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(55): 94554-94568[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5706895/>. DOI:10.18632/oncotarget.21791.
- [11] XIONG Y Y, WANG L, LI Y, et al. The long non-coding RNA XIST interacted with MiR-124 to modulate bladder cancer growth, invasion and migration by targeting androgen receptor (AR) [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(1): 405-418. DOI:10.1159/000480419.
- [12] ZHENG L D, JIAO W J, MEI H, et al. MiRNA-337-3p inhibits gastric cancer progression through repressing myeloid zinc finger 1-facilitated expression of matrix metalloproteinase 14[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(26): 40314-40328[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5130010/>. DOI:10.18632/oncotarget.9739.
- [13] ZHUANG Q F, SHEN J, CHEN Z, et al. MiR-337-3p suppresses the proliferation and metastasis of clear cell renal cell carcinoma cells via modulating Capn4[J]. *Cancer Biomark*, 2018, 23(4): 515-525. DOI:10.3233/CBM-181645.
- [14] XIANG X, MEI H, ZHAO X, et al. MiRNA-337-3p suppresses neuroblastoma progression by repressing the transcription of matrix metalloproteinase 14[J/OL]. *Oncotarget*, 2015, 6(26): 22452-22466[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4673175/>. DOI:10.18632/oncotarget.4311.
- [15] CARROLL L S, CAPECCHI M R. Hoxc8 initiates an ectopic mammary program by regulating Fgf10 and Tbx3 expression and Wnt/β-catenin

- signaling[J/OL]. *Development*, 2015, 142(23): 4056-4067[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4712843/>. DOI: 10.1242/dev.128298.
- [16] JIANG Y, YAN B, LAI W, et al. Repression of Hox genes by LMP1 in nasopharyngeal carcinoma and modulation of glycolytic pathway genes by HoxC8[J/OL]. *Oncogene*, 2015, 34(50): 6079-6091[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4564361/>. DOI:10.1038/onc.2015.53.
- [17] LI Y, ZHANG M X, CHEN H J, et al. Ratio of miR-196s to HOXC8 messenger RNA correlates with breast cancer cell migration and metastasis[J/OL]. *Cancer Res*, 2010, 70(20): 7894-7904[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2955846/>. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1675.
- [18] HUANG Y X, CHEN L H, GUO A. Upregulated expression of HOXC8 is associated with poor prognosis of cervical cancer[J/OL]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5): 7291-7296[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5920507/>. DOI:10.3892/ol. 2018.8200.
- [19] LIU H L, ZHANG M S, XU S S, et al. HOXC8 promotes proliferation and migration through transcriptional up-regulation of TGF β 1 in non-small cell lung cancer[J]. *Oncogenesis*, 2018, 7(2): 1. DOI: 10.1038/s41389-017-0016-4.
- [20] DU Y, WENG X D, WANG L, et al. LncRNA XIST Acts as a tumor suppressor in prostate cancer through sponging miR-23a to modulate RKIP expression[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(55): 94358-94370 [2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5706879/>. DOI:10.18632/oncotarget.21719.
- [21] YANG C, WU K, WANG S, et al. Long non-coding RNA XIST promotes osteosarcoma progression by targeting YAP via miR-195-5p [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7): 5646-5656. DOI: 10.1002/jcb. 26743.

[收稿日期] 2019-05-29

[修回日期] 2019-08-28

[本文编辑] 党瑞山